凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能、免疫器官指数、血清生化指标及肠道菌群的影响<sup>1</sup> 赵 娜 <sup>1,2</sup> 申 杰 <sup>1,2\*</sup> 魏金涛 <sup>1</sup> 张 巍 <sup>1</sup> 陈 芳 <sup>1</sup> 杨雪海 <sup>1</sup> 郭万正 <sup>1</sup> 杜金平 <sup>1</sup> 黄少文 <sup>1</sup>

(1.湖北省农业科学院畜牧兽医研究所;武汉 430064; 2.动物胚胎工程及分子育种湖北省重点实验室;武汉 430064)

摘 要:本试验旨在研究凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能、免疫器官指数、血清生化指标及肠道菌群的影响。选择健康的 1 日龄 10 000 只 AV500 肉鸡,随机分成 2 组,每组 5 个重复,每个重复 1 000 只鸡。对照组饲喂基础饲粮,试验组饲喂基础饲粮+300 mg/kg 凝结芽孢杆菌制剂。试验期 6 周。结果表明: 1) 1~21 日龄、22~42 日龄试验组肉鸡死淘率显著低于对照组 (P<0.05),分别下降了 61.7%、52.42%; 22~42 日龄,试验组肉鸡的平均日增重、平均日采食量均显著高于对照组 (P<0.05)。2) 21 日龄试验组肉鸡的胂脏指数、胸腺指数、法氏囊指数均显著高于对照组 (P<0.05),而肠道指数却显著低于对照组 (P<0.05)。42 日龄试验组肉鸡的脾脏指数、胸腺指数均显著高于对照组 (P<0.05)。3) 21 和 42 日龄试验组肉鸡血清中的丙氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶活性及总蛋白、球蛋白含量均显著高于对照组 (P<0.05)。4) 21 和 42 日龄试验组肉鸡盲肠、回肠食糜中凝结芽孢杆菌数量均显著高于对照组 (P<0.05),大肠杆菌数量均显著低于对照组 (P<0.05)。由此可见,饲粮中添加凝结芽孢杆菌可抑制肠道中大肠杆菌的生长,提高免疫器官指数,降低肉鸡死淘率。关键词:凝结芽孢杆菌;肉鸡;免疫器官指数;血清生化指标;肠道菌群

饲粮中添加益生菌制剂能有效调节胃肠道的微生态环境,有益于菌群平衡,可以提高畜禽生长性能和防治疾病<sup>[1]</sup>。益生菌制剂的无耐药性和无残留等优点是抗生素所无法比拟的。优良的益生菌制剂要具备菌种非病原性和无毒性,耐胃酸、耐胆盐、耐高温高压等高抗逆性,肠道上皮细胞吸附性,生长繁殖速度快,能产生抑菌物质以及耐储存等特征。凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)因为具有以上优势<sup>[2-6]</sup>,近年来,在猪、鸡等动物饲料中的应用逐步得到重视<sup>[7-10]</sup>。

凝结芽孢杆菌是产乳酸芽孢杆菌,属于硬壁菌门肠道乳酸菌[11];菌体发酵方式为同型

中图分类号: S831

基金项目: 国家肉鸡产业技术体系(CARS-42-Z16); 湖北省科技创新团队项目(2016-620-000-001-028)

作者简介: 赵 娜(1981-), 女,河南驻马店人,助理研究员,硕士,从事生物饲料开发与应用研究。E-mail: hnzona@sina.com

收稿日期: 2016-07-21

<sup>\*</sup>通信作者: 申 杰,副研究员, E-mail: shenjie200708@163.com

发酵,具有较广的抗菌谱,具有提高机体细胞免疫和体液免疫水平的作用[12],能刺激动物免疫器官的发育,提高动物的抗病能力;可产生蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶以及木聚糖酶等活性物质[13],促进营养物质的消化吸收;产生的维生素、短链脂肪酸、氨基酸、有机酸、促生长因子等可供动物机体提供营养[14-15],还可促进小肠的蠕动,改善肠道消化功能,为动物的生长发育提供有利条件[16]。凝结芽孢杆菌在不同形态饲料中都比较稳定,在饲料工业中应用价值较高。目前,凝结芽孢杆菌对肉鸡肠道微生物影响的研究较少。因此,本试验旨在研究饲粮中添加凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能、免疫器官指数、血清生化指标及肠道菌群的影响,为凝结芽孢杆菌在肉鸡生产中的科学应用提供参考依据。

# 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

凝结芽孢杆菌制剂:有效活菌数量为 1.0×10° CFU/g,由湖北绿天地生物科技有限公司提供。

试验动物为健康的 1 日龄 AV500 肉鸡 10 000 只, 试验在襄阳盛锋农牧有限公司养殖场进行。

## 1.2 试验设计及分组

将健康的 1 日龄 10 000 只 AV500 肉鸡随机分成 2 组,每组 5 个重复,每个重复 1 000 只鸡。对照组饲喂基础饲粮,试验组饲喂基础饲粮+300 mg/kg 凝结芽孢杆菌制剂。基础饲粮参照 NRC(1994)肉鸡饲养标准并结合实际生产情况进行配制,基础饲粮组成及营养水平见表 1。试验分为 1~21 日龄和 22~42 日龄 2 个阶段进行。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient lev	els of basal diets (air-d	ry basis) %
项目	1~21 日龄	22~42 日龄
Items	1 to 21 days of age	22 to 42 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	62.00	64.00
豆粕 Soybean meal	32.00	27.00
次粉 Flour		1.00
植物油 Vegetable oil	1.00	3.00
预混料 Premix <sup>1)</sup>	5.00	5.00
合计 Total	100.00	100.00

营养水平 Nutrient levels <sup>2</sup>						
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.03	12.56				
粗蛋白质 CP	20.80	18.50				
蛋氨酸 Met	0.48	0.43				
赖氨酸 Lys	1.29	1.10				
钙 Ca	0.98	0.90				
有效磷 AP	0.43	0.42				

<sup>1&</sup>lt;sup>1</sup> 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets: 1~21 日龄 1 to 21 days of age, Ca 8.8 g, P 3.0 g, Cu 80 mg, Fe 80 mg, Zn 80 mg, Mn 60 mg, I 0.4 mg, Se 0.14 mg, 氯化胆碱 choline chloride 600 mg, VA 15 000 IU, VE 80 IU, VD<sub>3</sub> 3 500 IU, VK 4 mg, VB<sub>1</sub> 4 mg, VB<sub>2</sub> 10 mg, 烟酸 nicotinic acid 45 mg, 泛酸 pantothenic acid 18 mg, 蛋氨酸 Met 2.6 g, 赖氨酸 Lys 0.22g; 22~42 日龄 22 to 42 days of age, Ca 8.0 g, P 2.8 g, Cu 80 mg, Fe 80 mg, Zn 80 mg, Mn 60 mg, I 0.4 mg, Se 0.14 mg, 氯化胆碱 choline chloride 600 mg, VA 15 000 IU, VE 80 IU, VD<sub>3</sub> 3 500 IU, VK 4 mg, VB<sub>1</sub> 4 mg, VB<sub>2</sub> 10 mg, 烟酸 nicotinic acid 45 mg, 泛酸 pantothenic acid 18 mg, 蛋氨酸 Met 2.3 g, 赖氨酸 Lys 0.2 g。

<sup>2</sup> 粗蛋白质、钙为实测值,其余均为计算值。CP, Ca were measured values, while the others were calculated values.

#### 1.3 饲养管理

鸡舍采用红外灯加温,第  $1\sim2$  天室温为 34 °C,第  $3\sim7$  天室温为 32 °C,第  $8\sim14$  天室温为 30 °C,第  $15\sim20$  天室温为 27 °C,此后调节鸡舍室温为 22 °C;相对湿度第  $1\sim7$  天保持为 70%,第  $8\sim20$  天保持为 60%,此后保持为 55%左右。光照强度 30 lx。试验期间动物采用网上平养,自由饮水、自由采食,每天除粪 1 次。按照常规程序进行消毒、免疫。

# 1.4 样品采集与检测

#### 1.4.1 样品采集

试验进行到第 21 天和第 42 天,鸡只禁食 12 h 后,每个重复分别随机抽取试验鸡 20 只称重,颈静脉放血处死后脱毛;剥离脾脏、胸腺、法氏囊、肠道等器官并称重。将接有颈静脉血的离心管静止 10 min 后 3 000 r/min 离心,取血清放于 4 ℃冰箱待测血清生化指标。在无菌状态下取盲肠、回肠内容物迅速放于灭菌冻存管中,液氮罐中保存用于检测肠道菌群数量。

### 1.4.2 试验仪器

AUY220 型电子分析天平、日本岛津 UV2550 型紫外-可见分光光度计、德国福斯 FOSS2300 型全自动凯氏定氮仪、罗氏 MODULP800 全自动生化分析仪、EDC-810 PCR 扩增仪、JY300 水平电泳仪、JY02S 紫外分析仪。

#### 1.4.3 生长性能及免疫器官指数的测定

试验当天及试验结束时以重复为单位称量仔鸡始重、末重(称重前 12 h 禁食,自由饮水)。每天记录喂料量、淘汰及病死鸡只情况。计算平均日增重、平均日采食量和料重比。

免疫器官指数:由器官重量与体重相除所得即为免疫器官指数,包括脾脏指数、胸腺指数、法氏囊指数、肠道指数。

### 1.4.4 血清生化指标的测定

血清生化指标的测定采用罗氏 MODULP800 全自动生化分析仪测定。

# 1.4.5 肠道微生物数量的测定

采用实时荧光定量 PCR 方法检测肠道内容物中的凝结芽孢杆菌和大肠杆菌数量。引物序列及参数见表 2, 引物由上海生工生物工程有限公司合成。按照北京天根基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取肠内容物 DNA,通过将含有目的 DNA 片段的琼脂糖凝胶进行回收,纯化分别获得肠球菌和大肠杆菌的标准品,然后将细菌的标准品进行实时荧光定量 PCR 反应,以不同标准品的拷贝数的对数值为横坐标,以实时荧光定量 PCR 反应过程中出现荧光信号的初始循环数(Ct)为纵坐标,绘制标准曲线。同时,将待测样品进行实时荧光定量 PCR 反应得到样品的 Ct 值,并将其和标准曲线进行比较,获得各个样品中细菌数量。

表 2 引物序列及参数
Table 2 Primer sequences and parameters

Table 2 Times sequences and parameters					
项目 Items	引物序列	退火温度	片段大小		
		Annealing	Fragment		
	Primer sequences (5'—3')	$temperature/{^{\circ}\!C}$	size/bp		
经付井边打击	上游 upstream:				
凝结芽孢杆菌 Bacillus	TTCGGGGGACAGAGTGACAGGTG	<i>(</i> 0)	234		
	下游 downstream:	60	234		
coagulans	CTCGCAGCCCTTTGTACCATCC				
	上游 upstream:				
大肠杆菌	CATGCCGCGTGTATGAAGAA	55.0	0.5		
E. coli	下游 downstream:	55.8	95		
	CGGGTAACGTCAATGAGCAAA				

### 1.5 数据统计与分析

运用 SPSS 16.0 软件对数据进行处理,并进行 t 检验。数据结果以"平均值±标准误"表示。

#### 2 结 果

### 2.1 凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响

凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响见表 3。 $1\sim21$  日龄、 $22\sim42$  日龄试验组肉鸡的死淘率均显著低于对照组(P<0.05),分别下降了 61.7%和 52.42%;  $1\sim21$  日龄对照组和试验组之间肉鸡的平均日增重、平均日采食量差异不显著(P>0.05)。 $22\sim42$  日龄,试验组肉鸡

的平均日增重、平均日采食量均显著高于对照组(*P*<0.05)。但是整个试验期间,试验组和对照组之间肉鸡的料重比差异不显著(*P*>0.05)。

表 3 凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响

Table 3 Effects of Bacillus coagulans on growth performance of broilers

项目	平均日增重	平均日采食量	料重比	死淘率
Items	ADG/g	ADFI/g	F/G	Mortality/%
1~21 日龄 1 to 21 days of age				
试验组 Test group	42.98±2.05	55.39±2.66	1.29±0.13	$0.44\pm0.01^{b}$
对照组 Control group	40.62±3.94	51.38±2.37	1.27±0.20	1.15±0.02ª
22~42 日龄 22 to 42 days of ag	ge			
试验组 Test group	86.67±5.78 <sup>a</sup>	165.32±21.89a	1.91±0.62	4.22±0.22 <sup>b</sup>
对照组 Control group	79.16±6.31 <sup>b</sup>	152.47±13.39 <sup>b</sup>	192±0.63	8.87±0.39a

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05),相同或无字母表示差异不显著(P>0.05)。下表同。 In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

# 2.2 凝结芽孢杆菌对肉鸡免疫器官指数的影响

凝结芽孢杆菌对肉鸡免疫器官指数的影响见表 4。21 日龄,试验组肉鸡的脾脏指数、胸腺指数、法氏囊指数均显著高于对照组(P<0.05),而肠道指数却显著低于对照组(P<0.05)。42 日龄,试验组肉鸡的脾脏指数、胸腺指数均显著高于对照组(P<0.05),但是法氏囊指数、肠道指数与对照组差异均不显著(P>0.05)。

表 4 凝结芽孢杆菌对肉鸡免疫器官指数的影响

Table 4 Effects of Bacillus coagulans on immune organ indexes of broilers

项目	脾脏指数	胸腺指数	法氏囊指数	肠道指数
Items	Spleen index	Thymus index	Bursa of Fabricius index	Intestinal index
21 日龄 21 days of age				
试验组 Test group	$0.23\pm0.00^{a}$	$0.31\pm0.00^{a}$	$0.19\pm0.00^{a}$	$4.77\pm0.36^{b}$
对照组 Control group	$0.12\pm0.00^{b}$	$0.25\pm0.00^{b}$	$0.15\pm0.00^{b}$	5.62±0.41a
42 日龄 42 days of age				
试验组 Test group	$0.14\pm0.03^{a}$	$0.22\pm0.05^{a}$	$0.05 \pm 0.00$	3.13±0.31
对照组 Control group	$0.10\pm0.03^{b}$	$0.15\pm0.08^{b}$	$0.04\pm0.01$	$3.36\pm0.73$

# 2.3 凝结芽孢杆菌对肉鸡血清生化指标的影响

凝结芽孢杆菌对肉鸡血清生化指标的影响见表 5。21、42 日龄,试验组肉鸡血清中的丙氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶活性均显著高于对照组 (*P*<0.05),试验组肉鸡血清中的总蛋白、球蛋白含量均显著高于对照组 (*P*<0.05),但试验组和对照组之间肉鸡血清中的天门冬氨酸氨基转移酶活性及白蛋白、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量均差异不显著 (*P*>0.05)。

表 5 凝结芽孢杆菌对肉鸡血清生化指标的影响

		Table 5	Effects of Ba	cillus coagular	s on serum bio	ochemical index	xes of broilers		
项目	丙氨酸氨基	天门冬氨酸氨	碱性磷酸酶	总蛋白	白蛋白	球蛋白	甘油三酯	高密度脂蛋白胆	低密度脂蛋白胆
Items	转移酶	基转移酶	ALP/(U/L)	TP/(g/L)	ALB/(g/L)	GLB/(g/L)	TG/(mmol/L)	固醇	固醇
	ALT/(U/L)	AST/(U/L)						HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)
21 日龄 21 days of age									
试验组 Test group	6.33±0.79 <sup>a</sup>	230.00±33.78	$770.33\pm92.30^a$	36.30±3.16 <sup>a</sup>	14.27±0.92	$22.07 \pm 1.45^{a}$	$0.43\pm0.10$	$2.84\pm0.30$	$0.73\pm0.16$
对照组 Control group	$4.25 \pm 0.57^{b}$	216.67±17.95	508.00±86.55b	$26.25 \pm 5.02^{b}$	12.14±1.03	14.29±0.79 <sup>b</sup>	$0.44\pm0.22$	2.29±0.12	0.82±0.42
42 日龄 42 days of age									
试验组 Test group	9.51±0.54a	261.31±19.45	863.00±75.21a	41.60±3.66a	15.47±1.30	26.13±3.66 <sup>a</sup>	$0.37\pm0.02$	2.95±0.23	1.34±0.41
对照组 Control group	6.12±0.31 <sup>b</sup>	244.50±26.16	739.24±65.31 <sup>b</sup>	30.20±2.94b	14.12±1.21	16.14±2.97 <sup>b</sup>	$0.36\pm0.03$	2.65±0.13	$0.96\pm0.33$

## 2.4 凝结芽孢杆菌对肉鸡肠道微生物数量的影响

凝结芽孢杆菌对肉鸡肠道微生物数量的影响见表 6。21、42 日龄,试验组肉鸡盲肠、回肠食糜中凝结芽孢杆菌数量显著高于对照组(*P*<0.05),大肠杆菌数量显著低于对照组(*P*<0.05)。随着食糜沿肠段推移,对照组和试验组 42 日龄盲肠中的大肠杆菌数量明显低于回肠。

表 6 凝结芽孢杆菌对肉鸡肠道微生物数量的影响

Table 6 Effects of Bacillus coagulans on intestinal microflora numbers of broilers lgCFU/g

项目	组别	凝结芽孢杆菌	大肠杆菌		
Items	Groups	Bacillus coagulans	E.coli		
21 目龄 21 day	rs of age				
盲肠	试验组 Test group	$7.08\pm0.21^{a}$	$7.22\pm0.36^{b}$		
Appendix	对照组 Control group	$4.62\pm0.23^{b}$	10.55±0.41a		
回肠	试验组 Test group	$7.29 \pm 0.14^{a}$	$7.11\pm0.38^{b}$		
Ileum	对照组 Control group	$4.11\pm0.22^{b}$	11.46±0.45a		
42 日龄 42 days of age					
盲肠	试验组 Test group	$7.00\pm0.15^{a}$	$6.57 \pm 0.33^{b}$		
Appendix	对照组 Control group	$4.31\pm0.29^{b}$	10.65±0.39a		
回肠	试验组 Test group	7.13±0.11 <sup>a</sup>	$9.43 \pm 0.15^{b}$		
Ileum	对照组 Control group	$4.24\pm0.14^{b}$	12.13±0.16 <sup>a</sup>		

### 3 讨论

# 3.1 凝结芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响

大量研究证明,饲粮添加益生菌可以提高动物的生长性能和饲料转化率<sup>[17-19]</sup>。研究表明, 肉鸡饲粮中添加凝结芽孢杆菌可以提高肉鸡饲料转化率<sup>[20-22]</sup>。本研究也发现,22~42 日龄 期间,饲粮中添加凝结芽孢杆菌组肉鸡的平均日增重、平均日采食量均显著高于对照组。凝 结芽孢杆菌能提高动物的增重和饲料转化率,可能是由于凝结芽孢杆菌在动物消化道内直接 产生营养物质,如维生素、氨基酸、促生长因子等来增加小肠蠕动的速度,改善消化道消化 功能,从而促进机体对饲料中各种营养成分的消化和吸收<sup>[14]</sup>。

### 3.2 凝结芽孢杆菌对肉鸡免疫器官指数的影响

胸腺、法氏囊和脾脏是禽类最重要的免疫器官,参与全身的细胞免疫和体液免疫<sup>[23]</sup>, 其重量可用来评价雏鸡的免疫状况<sup>[24]</sup>。本研究发现,21 日龄试验组肉鸡的脾脏指数、胸腺 指数、法氏囊指数均显著高于对照组,42 日龄试验组肉鸡的脾脏指数、胸腺指数均显著高 于对照组。胸腺、法氏囊、脾脏的相对重量增加,说明机体的免疫机能增强<sup>[25-26]</sup>。有报道表 明,雏鸡法氏囊萎缩则雏鸡不能产生抗体,如果法氏囊发达,则有利于抗体水平的提高<sup>[27]</sup>。 另外,本研究结果表明,21 日龄试验组肉鸡肠道指数显著低于对照组,说明肉鸡将更多的 能量用于肌肉组织而不是肠道生长,从而表现为肠道指数的差异;42 日龄对照组和试验组 间法氏囊指数、肠道指数差异均不显著,可能是由于鸡只体重增大,生长后期法氏囊萎缩, 从而使器官指数差异显著性降低。

免疫器官的发育差异可能是因为有益菌在肠道内大量繁殖,并不断合成有益物质,作为抗原物质刺激并促进免疫器官的生长发育<sup>[28]</sup>。赵树平等<sup>[29]</sup>也认为凝结芽孢杆菌在消化道的识别抗原部位可发挥免疫佐剂的功能,可以活化免疫系统,调节免疫。罗毅等<sup>[30]</sup>认为凝结芽孢杆菌可增强动物腹腔单核-巨噬细胞吞噬和分泌功能以及活化淋巴细胞,强化动物体内体液和细胞免疫水平提高,增强整体免疫能力。

微生态制剂对机体的免疫器官的促进作用导致动物机体的健康状况差别,生产上直接表现为死淘率的不同,本研究中 1~21 日龄、22~42 日龄饲粮中添加凝结芽孢杆菌后肉鸡死淘率均显著低于对照组。这说明凝结芽胞杆菌对肉鸡的生长特性及机体免疫功能具有比较显著的影响。

## 3.3 凝结芽孢杆菌对肉鸡血清生化指标的影响

凝结芽胞杆菌对肉鸡血清生化指标的影响也不尽相同。一定范围内的血清丙氨酸氨基转移酶活性反映出肝细胞代谢的活跃程度,本研究中试验组肉鸡血清中的丙氨酸氨基转移酶活性显著高于对照组,说明凝结芽孢杆菌对肝脏的生理功能有促进作用。血清中的碱性磷酸酶主要来自肝脏和骨骼,可以反映肝脏和骨骼生理状况<sup>[31]</sup>。碱性磷酸酶是小肠消化吸收功能发生变化的标志酶<sup>[32]</sup>,能防御致病菌脂多糖对肠道黏膜的损害<sup>[33]</sup>。试验组肉鸡血清碱性磷酸酶活性显著高于对照组,林丽花等<sup>[34]</sup>曾报道凝结芽孢杆菌显著或极显著提高了 28、70 日龄黄羽肉鸡血清碱性磷酸酶活性;本研究中试验组肉鸡血清中的总蛋白、球蛋白含量均显著高于对照组,血清总蛋白主要由血清球蛋白和血清白蛋白构成,血清总蛋白含量高,说明动物营养状况良好<sup>[35]</sup>。血清中的高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量反映胆固醇的合成与饲粮中脂类的吸收情况。甘油三酯是动物机体用于贮存能量的主要形式,可以反映体内脂类代谢状况<sup>[36]</sup>。本研究发现,1~42 日龄期间各组间血清甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇含量差异不显著。这与张维娜等<sup>[37]</sup>在异育银鲫中的试验结果一致,说明饲粮中添加凝结芽孢杆菌对动物机体脂肪代谢没有产生明显的影响。

#### 3.4 凝结芽孢杆菌对肉鸡肠道微生物数量的影响

凝结芽孢杆菌对动物肠道菌群的影响也得到广泛重视。在饲粮中添加凝结芽孢杆菌可降低有害菌的数量,通过改变肠道微生态体系来改善肠道消化吸收功能<sup>[20,39]</sup>。本研究通过使用实时荧光定量 PCR 的方法,对试验鸡只盲肠和回肠食糜中的凝结芽孢杆菌、大肠杆菌数量进行定量分析。与对照组相比,试验组鸡只盲肠、回肠食糜中凝结芽孢杆菌数量增加,大肠

杆菌数量下降。本研究说明凝结芽孢杆菌在肉鸡肠道内定植,通过竞争排斥作用而减少大肠 杆菌在肠道中的数量成为优势菌群,稳定发挥益生作用。

凝结芽孢杆菌为兼性厌氧菌,以芽孢的形态被动物摄入体内数小时后进入肠道,然后菌体和芽孢复苏,快速地大量分裂增殖,消耗游离氧[40],通过对营养物质和小肠黏膜上皮细胞结合位点的争夺作用,在一定程度上减少有害病菌在肠道上的定植;另外,凝结芽孢杆菌将环境中的碳水化合物特别是乳糖通过生物发酵作用转化为乳酸,从而在小肠上皮细胞表面形成一层生物屏障,阻止有害细菌的接近,同时降低肠道内环境 pH,抑制如大肠杆菌、沙门氏菌和肠球菌等致病菌的生长[3,41-44];此外凝结芽孢杆菌在其代谢繁殖过程中所分泌的大量抑制有害菌的凝固素和 L-乳酸等抑菌物质[45-47],也影响了有害细菌的繁殖,这几方面共同作用调节肠道内微生态的菌群平衡,从而有效地发挥凝结芽孢杆菌的益生功效,减少动物病害的发生。

### 4 结 论

肉鸡饲粮中添加凝结芽孢杆菌可抑制肠道中大肠杆菌的生长,刺激动物免疫器官的发育,降低肉鸡死淘率。

### 参考文献:

- [1] 刘虎传,张敏红,姜海龙.益生肠球菌的研究进展[J].动物营养学报,2011,23(12):2090-2096.
- [2] DAS S,SEN R.Kinetic modeling of sporulation and product formation in stationary phase by *Bacillus coagulans* RK-02 vis- à -vis other *Bacilli*[J].Bioresource Technology,2011,102(20):9659–9667.
- [3] HYRONIMUS B,LE MARREC C,HADJ SASSI A,et al.Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria[J].International Journal of Food Microbiology,2000,61(2/3):193–197.
- [4] 曹要玲,张弘,程敏婷,等.乳酸芽孢杆菌对动物生理环境和抗生素耐受性的试验研究[J].广东饲料,2011(9):19–20.
- [5] 孙娜新,董玉兰,张根伟,等.鸡源凝结芽孢杆菌的分离鉴定及生物学特性研究[J].饲料研究,2014(5):60-63.
- [6] 王标诗,李汴生,黄娟,等.超高静压协同中温对凝结芽孢杆菌芽孢灭活动力学规律的研究 [J].微生物学通报,2008,35(4):633-638.
- [7] 李雅丽,秦艳,周绪霞,等.6 株芽孢杆菌的生物学特性比较研究[J].中国畜牧兽医,2011,38(4):62-66.
- [8] ADAMI A, CAVAZZONI V. Occurrence of selected bacterial groups in the faeces of piglets fed with *Bacillus coagulans* as probiotic[J]. Journal of Basic Microbiology, 1999, 39(1):3–9.
- [9] ZHOU X,WANG Y,GU Q,et al.Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of *Guangxi* yellow chicken[J]. Poultry Science, 2010, 89(3):588–593.
- [10] 周映华,吴胜莲,胡新旭,等.不同芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能的影响[J].饲料工业,2012,33(3):21-23.

- [11] 杨立华,赵述淼,冷一非,等.一株凝结芽孢杆菌产芽孢条件的研究[J].中国酿造,2010(5):96-98.
- [12] INOOKA S,KIMURA M.The Effect of bacillus natto in feed on the sheep red blood cell antibody response in chickens[J]. Avian Diseases, 1983, 27(4):1086–1089.
- [13] HECK J X,FLÔRES S H,HERTZ P F,et al. Optimization of cellulase-free xylanase activity produced by *Bacillus coagulans* BL69 in solid-state cultivation[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(1):107–112.
- [14] 董惠钧,姜俊云,郑立军,等.新型微生态益生菌凝结芽孢杆菌研究进展[J].食品科学,2010,31(1):292-294.
- [15] ARA K,MEGURO S,HASE T,et al.Effect of spore-bearing lactic acid-forming bacteria (*Bacillus coagulans* SANK 70258) administration on the intestinal environment,defecation frequency,fecal characteristics and dermal characteristics in humans and rats[J].Microbial Ecology in Health and Disease,2002,14(1):4–13.
- [16] GIANG H H,VIET T Q,OGLE B,et al.Growth performance, digestibility, gut environment and health status in weaned piglets fed a diet supplemented with potentially probiotic complexes of lactic acid bacteria[J].Livestock Science, 2010, 129(1/2/3):95–103.
- [17] MOOKIAH S,SIEO C C,RAMASAMY K,et al.Effects of dietary prebiotics,probiotic and synbiotics on performance,caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2014,94(2):341–348.
- [18] SEN S,INGALE S L,KIM T W,et al.Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance,nutrient retention,caecal microbiology and small intestinal morphology[J].Research in Veterinary Science,2012,93(1):264–268.
- [19] 曾丽莉,谢丽曲,陈婉如,等.凝结芽孢杆菌对樱桃谷肉鸭生长性能及生化指标的影响[J].福建农业学报,2015,30(5):435-441.
- [20] HUNG A T,LIN S Y,YANG T Y,et al. Effects of *Bacillus coagulans* ATCC 7050 on growth performance,intestinal morphology,and microflora composition in broiler chickens[J]. Animal Production Science, 2012, 52(9):874–879.
- [21] 宫秀燕,韦明,蒋秋斐,等.凝结芽孢杆菌对肠炎沙门氏菌感染肉鸡生产性能和抗氧化功能的影响[J].中国畜牧杂志,2015,51(17):74-79,98.
- [22] 王政,张大伟,齐长海,等.凝结芽孢杆菌对白羽肉鸡生产性能及部分肠道微生物相关指标的影响[J].中国饲料,2016(7):31-34.
- [23] 崔治中,崔保安.兽医免疫学[M].北京:中国农业出版社,2004:13-20.
- [24] 吕景旭,王苏宁,黄秋实,等.肉仔鸡饲料中添加益生素的效果[J].中国饲料,1998(10):21-22.
- [25] 关静姝,董经勇,张江.益生菌和抗菌肽复合物对肉鸡生产性能及免疫性能的影响[J].饲料博览,2016(3):19-22.
- [26]RIVAS A L,FABRICANT J.Indications of immunodepression in chickens infected with various strains of Marek's disease virus[J]. Avian Disease, 1988, 32(1):1–8.
- [27] 周淑芹,孙文志,魏树龙.酵母培养物对肉仔鸡生长性能和免疫机能的影响研究[J].饲料博览,2003(6):1-3.
- [28] 何明清,程安春.动物微生态学[M].2 版.成都:四川科学技术出版社,2004:201-208.
- [29] 赵树平,包维臣,高鹏飞,等.凝结芽孢杆菌的特性及研究进展[J].家畜生态学报,2014,35(2):6-10,20.
- [30] 罗毅,戴晋军.芽孢杆菌的作用原理及在蛋鸡中的应用[J].饲料研究,2009(4):37-38.
- [31] FOSSATI P,ERGIS A M,ALLILAIRE J F.Executive functioning in unipolar depression:a

- review[J].L'Encephale,2002,28(2):97-107.
- [32] 陈彤,杨小燕,祁保民.猪增生性肠炎消化系统酶活性的变化[J].安徽农业大学学报,2011,38(2):267-270.
- [33] 肖英平,洪奇华,刘秀婷,等.谷氨酰胺对断奶仔猪生长性能、营养物质表观消化率、空肠碱性磷酸酶活性及与肠道健康相关因子基因表达的影响[J]. 动物营养学报,2012,24(8):1438–1446.
- [34] 林丽花,柯芙容,詹湉湉,等.凝结芽孢杆菌对黄羽肉鸡生产性能、血清生化指标及抗氧化功能的影响[J].动物营养学报,2014,26(12):3806–3813.
- [35] ŘEHULKA J,MINAŘIK B.Effect of lecithin on the haematological and condition indices of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)[J].Aquaculture Research,2003,34(8):617–627. [36] 宋凯,单安山,李建平.不同配伍酶制剂添加于小麦日粮中对肉仔鸡生长和血液生化指标的影响[J].动物营养学报,2004,16(4):25–29.
- [37] 张维娜,夏飞,谢骏,等.凝结芽孢杆菌 JSSW-07 对异育银鲫生长及免疫功能的影响[J].江苏农业学报,2015,31(3):630-637.
- [38] 孙焕林,刘艳丰,王品,等.凝结芽孢杆菌对黄羽肉鸡生长性能、肠道功能及肉品质的影响 [J].石河子大学学报:自然科学版,2014,32(3):307-312.
- [39] 唐建中. 芽孢杆菌抑菌耐药和耐热性能及其对黄羽肉鸡生产性能影响的研究[D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- [40] HOLZAPFEL W H,BOTHA S J.Physiology of *Sporolactobacillus* strains isolated from different habitats and the indication of *in vitro* antagonism against *Bacillus* species[J].International Journal of Food Microbiology, 1988, 7(2):161–168.
- [41] LONKAR P,HARNE S D,KALOREY D R,et al.Isolation,in vitro antibacterial activity,bacterial sensitivity and plasmid profile of *Lactobacilli*[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2005,18(9):1336–1342.
- [42] DONSKEY C J,HOYEN C K,DAS S M,et al.Effect of oral *Bacillus coagulans* administration on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized mice[J].Letters in Applied Microbiology,2001,33(1):84–88.
- [43] BONDI M,MESSI P,DANILA I,et al.Biological characteristics of LABLYS98,a *Lactobacillus sporogenes* for use as a probiotic compound[J].Industrie Alimentari,2000,39:704–710.
- [44] 崔云龙,闫述翠,万阜昌.凝结芽胞杆菌TBC 169株对肠道致病菌的抑菌作用[J].中国微生态学杂志,2005,17(5):333-334,338.
- [45] LE MARREC C,HYRONIMUS B,BRESSOLLIER P,et al.Biochemical and genetic characterization of coagulin,a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins,produced by *Bacillus coagulans* I<sub>4</sub>[J].Applied and Environmental Microbiology,2000,66(12):5213–5220.
- [46] MA K D,MAEDA T,YOU H Y,et al. Open fermentative production of *L*-lactic acid with high optical purity by thermophilic *Bacillus coagulans* using excess sludge as nutrient[J]. Bioresource Technology, 2014, 151:28–35.
- [47] JIANG T,XU Y B,SUN X C,et al.Kinetic characterization of recombinant *Bacillus coagulans* FDP-activated *L*-lactate dehydrogenase expressed in *Escherichia coli* and its substrate specificity[J].Protein Expression and Purification,2014,95:219–225.

Effects Bacillus coagulans on Growth Performance, Immune Organ Indexes, Serum Biochemical

#### Indexes and Intestinal Flora of Broilers

ZHAO Na<sup>12</sup> ShEN Jie <sup>12\*</sup> WEI Jintao<sup>1</sup> ZHANG Wei<sup>1</sup> CHEN Fang<sup>1</sup> YANG Xuehai<sup>1</sup> GUO Wanzheng<sup>1</sup> DU Jinping<sup>1</sup> HUANG Shaowen<sup>1</sup>

(1. Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 2. Hubei Key Laboratory of Animal Embryo Engineering and Molecular Breeding, Wuhan 430064, China)

Abstract: This study was conducted to evaluate the effects Bacillus coagulans on growth performance, immune organ indexes, serum biochemical indexes and intestinal flora of broilers. A total of 10 000 one-day-old AV500 broilers were randomly divided into two groups with five replicates per group, and each replicate contained 1 000 broilers. Broilers in the control group were fed a basal diet, and the others in the test group was fed the basal diet+300 mg/kg Bacillus coagulans. The experiment lasted for 6 weeks. The results showed as follows: 1) the mortality of broilers of test group was significantly lower than that of control group at 1 to 21 days of age and 22 to 42 days of age (P<0.05), and decreased 61.7% and 52.42%, respectively; the average daily gain and average daily feed intake of broilers of test group were significantly higher than that of control group at 22 to 42 days of age (P<0.05). 2) The spleen index, thymus index and bursa of Fabricius index of broilers of test group were significantly higher than that of control group at 21 days of age (P<0.05), while the intestinal index was significantly lower than that of control group (P<0.05). The spleen index and thymus index of broilers of test group were significantly higher than that of control group at 42 days of age (P<0.05). 3) The activities of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and the contents of total protein, globulin in serum of broilers of test group were significantly higher than that of control group at 21 and 42 days of age (P<0.05). 4) The number of Bacillus coagulans in Appendix and ileum digesta of broilers of test group was significantly higher than that of control group at 21 and 42 days of age (P<0.05), while the E. coli number was significantly lower than that of control group (P<0.05). In conclusion, dietary added with Bacillus coagulans can inhibit the growth of E. coli in the intestine, improve the immune organ indexes and reduce the mortality of broilers.

Key words: *Bacillus coagulans*; broilers; immune organ indexes; serum biochemical indexes; intestinal flora<sup>i</sup>

<sup>\*</sup>Corresponding author, associate professor, E-mail: shenjie200708@163.com (责任编辑 武海龙)